

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「エピゲノム研究に基づく診断・治療へ
向けた新技術の創出」
Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation,
“Development of Fundamental Technologies for Diagnosis and Therapy Based upon
Epigenome Analysis”

研究開発課題名：環境要因によるエピゲノム変化と疾患
Epigenome change induced by environmental factors and diseases

研究開発担当者 石井分子遺伝学研究室 上席研究員 石井俊輔
所属 役職 氏名：Molecular Genetics Laboratory, Distinguished Senior Scientist, Shunsuke Ishii

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

栄養状態や病原体感染などの環境要因が、エピゲノム変化を誘導し、多くの疾患発症に影響すると推定されている。しかしエピゲノム変化の誘導メカニズムや疾患との関連については不明な点が多い。私達は様々な環境要因が、ATF2 ファミリー転写因子を介して、エピゲノム変化を誘導し、その状態が長期間持続することを見出している。本研究では、環境要因がエピゲノム変化を誘導するメカニズムを明らかにし、エピゲノム変化と疾患との関連を解析し、診断・予防・治療法の開発に資することを目指している。本年度は、栄養条件や精神ストレスによるエピゲノム変化誘導のメカニズムとエピゲノム変化の遺伝メカニズムを解析した。

栄養は重要な環境要因の1つであり、胎児期・乳幼児期の栄養状態が、生活習慣病などの発症に影響することは、胎児プログラミング仮説として知られている。またマウスなどのモデル生物を用いて、低タンパク質餌や高脂肪餌が次世代の遺伝子発現パターンを変化させることが報告されているが、そのメカニズムは不明である。私達は栄養条件によるエピゲノム変化におけるATF7の役割を、マウスATF7変異体を用いて解析した。その結果、父親マウスを、低タンパク質餌で飼育すると、次世代マウスの肝臓で、一群の遺伝子、特にコレステロール生合成系遺伝子、の発現が上昇することを確認した。さらにATF7変異体マウスを用いて同様の実験を行うと、そのような遺伝子発現変化は観察されなかった。この結果は、精巣の精細胞において、低タンパク質餌によるエピゲノム変化がATF7依存的に誘導され、それが次世代に遺伝することを示唆している。私達はすでにATF7はヒストンH3K9トリメチル化酵素 ESET、及びヒストンH3K9ジメチル化酵素 G9aと結合し、これらの酵素を標的遺伝子に運ぶことによりヘテロクロマチン様構造を形成すること、そしてATF7がストレスにより活性化されたストレス応答性リン酸化酵素p38によりリン酸化されると、標的遺伝子から遊離し、ヘテロクロマチン様構造が壊れることを報告している。従って、精細胞において、低タンパク質餌がどのようなメカニズムで、ATF7のリン酸化を誘導するのかが、今後の重要な課題となる。また私達は精巣の精細胞においてATF7が結合する遺伝子をChIP-seq 法により同定した。これらのATF7結合遺伝子にはコレステロール生合成系遺伝子を含む代謝系遺伝子が含まれており、これらの遺伝子のエピゲノム変化が次世代に遺伝することが示唆された。

精神ストレスもまた、エピゲノム変化を誘導し得る重要な環境要因である。精神ストレスによるエピゲノム変化が次世代に遺伝するかどうかは、科学的にも、社会的にも重要な研究テーマである。私達はショウジョウバエを用いて、強い精神ストレスの1つである拘束ストレスの影響が次世代に遺伝するか否かを解析した。父親ハエに拘束ストレスを与えると、次世代で代謝系遺伝子の発現が変化した。一方dATF2変異体を用いて同様の実験を行うと、このような変化は観察されず、この現象がdATF2依存的であることが示された。この結果は、精神ストレスの影響が、ATF2ファミリー転写因子依存的に次世代に遺伝すること

を示唆している。またこの結果は、精神ストレスと代謝系の関連を示唆しており、興味深い。

It is speculated that environmental factors such as nutrition and pathogen infection induce epigenome changes which affect the onset of many diseases. However, it remains elusive how environmental factors induce epigenome changes and how they affect the onset of diseases. We found that various environmental factors induce epigenome changes via the ATF2 family of transcription factors, which is maintained for long period. In this project, we aim to clarify the molecular mechanism underlying environmental factors induce epigenome changes, and to analyze the correlation between epigenome change and diseases, which contributes to the development of new methods for diagnosis, prevention, and therapy. In this physical year, we have analyzed the mechanism of induction of epigenome changes and the inheritance of such epigenome changes.

Nutrition is one of the important environmental factors. DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) hypothesis describes that the nutritional state during fetus and infant affects the onset of life-style-related diseases. In addition, it was shown using mice and rats that low-protein diet or high-fat diet induces a change of gene expression pattern of offspring, but its mechanism remains unknown. We have examined the role of ATF7 in such phenomena. Our results indicated that low-protein diet increased the expression level of a group of genes in the offspring liver, including the genes involved in the cholesterol biosynthesis. In addition, when ATF7 mutant mice were used, such increase of gene expression level was not observed. These results suggest that epigenome change was induced by low-protein diet in testicular germ cells in an ATF7-dependent manner, which is inherited to the next generation. We previously reported that ATF7 binds to histone H3K9 trimethyltransferases ESET and histone H3K9 dimethyltransferase G9a, and that ATF7 contributes to the formation of heterochromatin structure by recruiting those enzymes to its target genes. Furthermore, in response to various stresses, ATF7 is phosphorylated by stress-activated protein kinase p38, which induces a release of ATF7 from the target genes and a disruption of heterochromatin structure. Therefore, the next important question is how low-protein diet induces ATF7 phosphorylation. We have also identified the ATF7-binding genes in the testicular germ cells by ChIP-seq analysis. They contained a group of metabolism-related genes containing the cholesterol biosynthesis-related genes, suggesting that epigenome change of those genes may be inherited to the next generation.

Psychological stress is also one of the important environmental factors which may induce epigenome change. It is an important question whether epigenome change induced by psychological stress is inherited. We have examined whether the effect of restraint stress, one of the strong psychological stresses, is inherited. Paternal restraint stress induced the change

of expression pattern of metabolism-related genes in the offspring. When dATF2 mutant flies were used, such change was not observed, suggesting that this phenomenon depends on dATF2. It is also interesting that these results suggest the correlation between psychological stress and metabolism.

II. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 2件）

1. Padavattan S, Thiruselvam V, Shinagawa T, Hasegawa K, Kumasaka T, Ishii S & Kumarevel T: Structural analyses of the nucleosome complexes with human testis-specific histone variants, hTh2a and hTh2b. *Biophys Chem.* 221, 41-48, 2017.
2. Liu Y, Maekawa T, Yoshida K, Furuse T, Kaneda H, Wakana S & Ishii S: ATF7 ablation prevents diet-induced obesity and insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun.* 478, 696-702, 2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Analysis for trans-generational inheritance of epigenetic change induced by pathogen infection via ATF7, 口頭、吉田圭介、石井俊輔、Conference on Innate Immune Memory, Hinxton, Cambridge, UK, 2017/3/14, 国外.
2. Innate immune memory in macrophages via ATF7-dependent epigenetic changes. 口頭、石井俊輔、Conference on Innate Immune Memory, Hinxton, Cambridge, UK, 2017/3/15, 国外.
3. 精子を介したエピゲノム情報の伝達、口頭、石井俊輔、ワークショップ「染色体研究の最前線」、大阪、2017/1/17, 国内.
4. 環境要因によるエピゲノム変化の世代を超えた遺伝、口頭、石井俊輔、第10回日本エピジェネティクス研究会年会、大阪、2016/5/19, 国内.
5. 低タンパク質餌によるエピゲノム変化の世代を超えた遺伝、口頭、吉田圭介、石井俊輔、第10回日本エピジェネティクス研究会年会、大阪、2016/5/19, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし。

(4) 特許出願
なし。